SNAPSHOOT
ENGINEERED FOR A SAFER TOMORROW

현장을 이해하고, 필요한 솔루션을 연결합니다.

산업안전 · 추락방지 시스템
산업용 소재 · 건축자재
제품 제안부터 공급·시공·설치·교육까지



COMPANY INFORMATION

스냅슛 (SNAPSHOOT)

ADDRESS (15431) 경기도 안산시 단원구 풍전로 37-9 트리플렉스 301동 118호
TEL 0507-1374-9229
FAX 0504-481-6749
E-MAIL bkkim@snapshoot.co.kr

TECHNICAL DOCUMENTS

인증서 · 데이터시트 · 기술자료

제품의 규격과 성능, 인증 및 적용 조건을 확인하기 위한 자료입니다.

ABOUT SNAPSHOOT

제품 공급을 넘어, 현장에 맞는 해결책으로

스냅슛은 산업현장의 작업 환경과 요구 조건을 바탕으로
적합한 제품과 시스템을 제안합니다. 현장 실사를 통해 설치 조건을 확인하고,
공급부터 시공·설치 및 사용 교육까지 필요한 과정을 함께합니다.

추락방지 시스템

안전대부착설비 · 수평·수직 라이프라인
레일 시스템 · 리지드 포스트

밀폐공간 진입·구조 솔루션

데빗암 · 삼각대 · 구조용 윈치
윈치 안전블록 · 구조장비

산업안전 보호구

전신형 안전대 · 랜야드 · 안전블록
작업 환경에 맞춘 개인보호구

산업용 소재·건축자재

산업용 테이프 · 접착제 · 기능성 소재
구조용 스크류 · 목조건축 자재

SNAPSHOOT
ENGINEERED FOR A SAFER TOMORROW

홈페이지 바로가기 →
문서 라이브러리 바로가기 →
시공사례 바로가기 →
문의하기 →

본 페이지는 스냅슛의 자료 제공 안내용 표지입니다. 첨부된 인증서 및 기술자료의 발행 주체, 인증 대상과 적용 범위는 해당 원문을 기준으로 확인해 주세요.

L-APFELSÄURE
(LIQUID READY™)

PRODUKTANWEISUNGEN

SKU: 700007622
K-LMLQR

04/24

(50 manuelle Assays pro Kit) oder
(500 Auto-Analysiergeräte-Assays pro Kit)

© 2024, Neogen Corporation. Alle Rechte vorbehalten.

Neogen, Megazyme, Liquid Ready und MegaCalc sind Handelsmarken der Neogen Corporation. Alle anderen Marken sind Eigentum ihrer jeweiligen Inhaber.

EINFÜHRUNG:

Als Bestandteil des Zitronensäurezyklus kommt L-Äpfelsäure (L-Malat) in allen lebenden Organismen vor. Ihre quantitative Bestimmung ist besonders wichtig bei der Herstellung von Wein, Bier, Brot, Obst- und Gemüseprodukten sowie in Kosmetika und Arzneimitteln. Sie ist eine der wichtigsten Fruchtsäuren und weist im Wein die höchste Konzentration aller Säuren auf. In der Weinindustrie wird der Gehalt an L-Äpfelsäure zusammen mit der L-Milchsäure während der malolaktischen Gärung überwacht. L-Äpfelsäure findet zahlreiche Anwendungen als Lebensmittelkonservierungsmittel (E296) und geschmacksverstärkende Substanz, beispielsweise bei der Herstellung von kalorienarmen Getränken.

GRUNDSATZ:

Der Nachweis von L-Äpfelsäure erfordert zwei enzymatische Reaktionen. In der ersten Reaktion, die von der L-Malat-Dehydrogenase (L-MDH) katalysiert wird, wird L-Äpfelsäure durch Nicotinamid-Adenin-Dinukleotid (NAD^+) zu Oxalacetat oxidiert (1).

(1) L-Apfelsäure + NAD^+ $\xleftrightarrow{\text{(L-MDH)}}$ Oxalacetat + NADH + H^+

Da das Gleichgewicht der Reaktion (1) jedoch eindeutig zugunsten von L-Äpfelsäure und NAD+ ausfällt, ist eine weitere Reaktion erforderlich, um das NADH-Produkt "einzufangen", und dies wird durch die Umwandlung von Oxalacetat in L-Aspartat und 2-Oxoglutarat in Gegenwart eines großen Überschusses an L-Glutamat durch Glutamat-Oxalacetat-Transaminase (GOT) erreicht (2).

(2) Oxaloacetat + L-Glutamat $\xrightarrow{\text{(GOT)}}$ L-Aspartat + 2-Oxoglutarat

Die Menge an NADH, die bei der oben genannten gekoppelten Reaktion gebildet wird, ist stöchiometrisch zur Menge an L-Äpfelsäure. Das NADH wird durch den Anstieg der Extinktion bei 340 nm gemessen.

SPEZIFITÄT, EMPFINDLICHKEIT UND LINEARITÄT:

- Der Assay ist spezifisch für L-Äpfelsäure.
- Die Nachweisgrenze (LOD) liegt bei 0,005 g/L, die Bestimmungsgrenze (LOQ) bei 0,016 g/L (bei einem Probenvolumen von 0,1 mL).
- Der empfohlene Messbereich liegt zwischen 0,02 und 1,0 g/L (unter Verwendung eines Probenvolumens von 0,1 mL). Dies entspricht 2–100 µg an L-Apfelsäure pro Test.

INTERFERENZEN:

Es wurden keine interferierenden Verbindungen identifiziert.

SICHERHEIT:

Die allgemeinen Sicherheitsmaßnahmen, die für alle chemischen Substanzen gelten, sollten beachtet werden. Nach dem Gebrauch können die Reagenzien mit dem Laborabfall entsorgt werden.

HINWEIS: Weitere Informationen über die Leistung dieses Produkts sind im zugehörigen Validierungsbericht zu finden, der auf der Megazyme-Website verfügbar ist. Weitere Informationen über die sichere Verwendung und Handhabung dieses Produkts sind im zugehörigen Sicherheitsdatenblatt zu finden, das auf der Megazyme-

KIT-INHALT:

Kit geeignet für manuelle und automatisierte Formate. Die Reagenzien sind ausreichend für die Durchführung von 50 Assays im manuellen Format oder 500 Assays im automatisierten Format mit einem Analysegerät. Der Kit enthält:

Reagenz 1 (2 x 50 ml): L-Glutamat
Enthält Natriumazid (0,05 % *w/v*) als Konservierungsmittel.
Gebrauchsfertig.
Bei 4 °C lagern. Verfallsdatum siehe individuelles Etikett.

Reagenz 2 (2 x 12,5 ml): NAD, L-MDH und GOT
Enthält Natriumazid (0,05 % *w/v*) als Konservierungsmittel.
Gebrauchsfertig.
Bei 4 °C lagern. Verfallsdatum siehe individuelles Etikett.

Standard (5 ml): L-Apfelsäure (1 g/L).
Enthält Natriumazid (0,05 % *w/v*) als Konservierungsmittel.
Gebrauchsfertig.
Bei 4 °C lagern. Verfallsdatum siehe individuelles Etikett.

HINWEIS: Die L-Apfelsäure-Standardlösung wird nur dann getestet, wenn Zweifel an der Genauigkeit des verwendeten Spektralphotometers bestehen oder wenn der Verdacht besteht, dass eine Hemmung durch Substanzen in der Probe verursacht wird. Die Konzentration der L-Apfelsäure wird direkt anhand des

VORBEREITUNG DER REAGENZLÖSUNGEN:

Alle Reagenzien sind vor Gebrauch auf Raumtemperatur (20–25 °C) zu bringen.

MANUELLES TESTVERFAHREN:

Wellenlänge: 340 nm
Küvette: 1 cm Lichtweg (Glas oder Kunststoff)
Temperatur: 20–37 °C
Endvolumen: 2,60 ml
Probenlösung: 0,02 et 1,0 g/L (2–100 µg L-Apfelsäure pro Küvette)
Ablesen gegen Luft (ohne Küvette im Lichtweg) oder gegen Wasser

In die Küvetten pipettieren	Leerwert	Probe
Reagenz 1	2,0 mL	2,0 mL
Probe	-	0,1 mL
Destilliertes Wasser	0,1 mL	-
Mischen*, ~ 3 Minuten bei 20–37 °C inkubieren, dann die Extinktionen ablesen (A_1) Reagenz 2 wie unten beschrieben hinzugeben:		
Reagenz 2	0,5 mL	0,5 mL
Mischen*, ~ 5 Minuten bei 20–37 °C inkubieren, dann die Extinktionen ablesen (A_2). **		

* entweder durch Ansaugen mit der Pipettenspitze, die zur Abgabe der Flüssigkeit verwendet wurde, oder durch leichtes Umdrehen nach dem Verschließen der Küvette mit einem Küvettendeckel oder Parafilm®.
** Eventuell muss überprüft werden, ob die Reaktion abgeschlossen ist, indem die Extinktionen weiterhin in Abständen von 1 Minute gemessen werden. Wenn die Reaktion noch nicht abgeschlossen ist, mit der Messung der Extinktionen fortfahren, bis die gemessenen Werte entweder gleich bleiben oder über 1 Minuten hinweg konstant ansteigen. Ist diese „Kriechrate" bei der Probe größer als beim Leerwert, müssen die Extinktionen (Probe und Leerwert) zurück auf den Zeitpunkt der Zugabe von Reagenz 2 extrapoliert werden.

HINWEIS: Der Reagenzleerwert muss für jeden Lauf einmal bestimmt und von jedem Probenergebnis subtrahiert werden.

BERECHNUNG:

HINWEIS: Diese Berechnungen können mit dem Tool *MegaCalc*™ vereinfacht werden, das von der Produktseite heruntergeladen werden kann.

1. Berechnung des Verdünnungsfaktors (df)

Den Verdünnungsfaktor (df) der optischen Dichten entsprechend des Reagenzvolumens bestimmen.

$$df = \frac{\text{Probenvolumen [mL]+ R1-Volume [mL]}}{\text{Gesamtes Reaktionsvolumen [mL]}}$$

Folgendes gilt für das manuelle L-Apfelsäure-Testverfahren:

$$df = \frac{0,1 + 2,0}{2,6} = 0,808$$

2. Berechnung der Extinktionsdifferenz $\Delta A_{\text{L-Apfelsäure}}$

$$\Delta A_{\text{L-Apfelsäure}} = (A_2 - df \times A_1)_{\text{Probe}} - (A_2 - df \times A_1)_{\text{Leerwert}}$$

Folgendes gilt für das manuelle L-Apfelsäure-Testverfahren:

$$\Delta A_{\text{L-Apfelsäure}} = (A_2 - 0,808 \times A_1)_{\text{Probe}} - (A_2 - 0,808 \times A_1)_{\text{Leerwert}}$$

HINWEIS: Eine Vergrößerung oder Verkleinerung des Probenvolumens bei unverändertem Reagenzienvolumen erfordert eine Neuberechnung des Verdünnungsfaktors. Wenn die Volumina geändert werden, kann die Leistung beeinträchtigt werden.

3. Berechnung des L-Apfelsäure-Gehalts

Die L-Apfelsäure-Konzentration kann wie folgt berechnet werden:

$$c = \frac{V \times MW}{\varepsilon \times d \times v} \times \Delta A_{\text{L-Apfelsäure}} \quad [g/L]$$

wobei:

V = Endvolumen [mL]
MW = Molekulargewicht der L-Apfelsäure [g/mol]
ε = Extinktionskoeffizient von NADH bei 340 nm [l x mol^{-1} x cm^{-1}]
d = Lichtweg [cm]
v = Probenvolumen [mL]

Folgendes gilt für das manuelle L-Apfelsäure-Testverfahren:

$$cc = \frac{2,6 \times 134,09}{6300 \times 1,0 \times 0,1} \times \Delta A_{\text{L-Apfelsäure}} \quad [g/L]$$

$$= 0,5534 \times \Delta A_{\text{L-Apfelsäure}} \quad [g/L]$$

Wenn die Probe während der Vorbereitung verdünnt wurde, muss das Ergebnis mit dem Verdünnungsfaktor F multipliziert werden.

4. Berechnung des L-Apfelsäure-Gehalts in festen oder halbfesten Proben:

Bei der Analyse von festen und halbfesten Proben, die zur Probenvorbereitung eingewogen werden, wird der Gehalt (g/100 g) wie folgt aus der eingewogenen Menge berechnet:

$$\frac{c_{\text{L-Apfelsäure}}\ [g/L\ \text{Probenlösung}]}{\text{Gewicht}_{\text{Probe}}\ [g/L\ \ \text{Probenlösung}]} \times 100 \quad [g/100\ g]$$

AUTOMATISIERTES TESTVERFAHREN MIT EINEM ANALYSEGERÄT:

Dieser Kit wurde für biochemische Analysegeräte entwickelt und kann an die meisten Geräte angepasst werden. Nachfolgend ist eine Beispielmethode dargestellt (validiert auf dem Awareness ChemWell®-T-Analysegerät).

HINWEIS: Für jede Probencharge, die für die Bestimmung von L-Apfelsäure verwendet wird, muss gleichzeitig eine Kalibrierungskurve mit derselben Reagenziencharge erstellt werden.

Parameter	**Details**
Wellenlänge	340/405 nm (primär/sekundär)
Temperatur	20–37 °C
Test	Endpunkttest mit folgender Testfolge: – Reagenz 1 hinzugeben **[0,2 mL]** – Probe oder Kalibrator hinzugeben **[0,01 mL]** – 1–3 Minuten vorinkubieren [20–37 °C] – A_1 bei 340/405 nm messen – Reagenz 2 hinzugeben **[0,05 mL]** – 5 Minuten bei [20–37 °C] inkubieren – A_2 bei 340/405 nm messen – $A_2 - A_1$ gegen die Kalibrierkurve berechnen
Kalibrierung	Mit 2–4 Kalibratoren im Bereich von 0–1,0 g/L kalibrieren. Die Kalibrierkurve ist linear. Ein Beispiel für die Verwendung des mit dem Kit gelieferten Standards zur Erstellung einer Kalibrierungskurve ist unten dargestellt: Kalibrator 1 0 g/L (destilliertes Wasser verwenden) Kalibrator 2 0,1 g/L (Standard 10-fach verdünnen) Kalibrator 3 0,5 g/L (Standard 2-fach verdünnen) Kalibrator 4 1,0 g/L (Standard unverändert verwenden) *Alle Verdünnungen mit destilliertem Wasser durchführen.*

PROBENVORBEREITUNG:

1. <u>Probenverdünnung</u>

Die in der Küvette vorhandene Menge an L-Apfelsäure sollte zwischen 0,02 g/L bis 1,0 g/L zu erreichen. Ist der Wert von $\Delta A_{\text{L-Apfelsäure}}$ zu niedrig (z. B. < 0,1), muss mehr Probe eingewogen oder die Verdünnung verringert werden. Ist der Wert von $\Delta A_{\text{L-Apfelsäure}}$ zu hoch (z. B. > 2,0), muss die Verdünnung mit destilliertem Wasser erhöht werden.

Verdünnungstabelle

Geschätzte Konzentration in der Probe (g/L)	Geschätzte Konzentration in der Probe	Verdünnungsfaktor (F)
<1,0	Keine Verdünnung	1
1,0 – 10	1mL probe + 9 mL destilliertes Wasser	10
10 - 100	1mL probe + 99 mL destilliertes Wasser	100

2. <u>Allgemeiner Leitfaden für die Probenvorbereitung</u>

- Klare, leicht gefärbte und annähernd neutrale, flüssige Proben mit einer Konzentration von bis zu 1,0 g/L können direkt für den Test verwendet werden.
- Trübe Proben sollten filtriert oder zentrifugiert werden.
- Saure Proben (pH < 3,0) müssen auf etwa pH 8,0 neutralisiert werden.
- Kohlendioxidhaltige Proben sollten durch leichtes Schütteln oder Rühren mit einem Glasstab entgast werden.
- Feste Proben sollten homogenisiert, in Wasser extrahiert und gegebenenfalls filtriert oder zentrifugiert werden.
- Stark gefärbte Proben sollten durch Zugabe von 0,2 g Polyvinylpolypyrrolidon (PVPP) pro 10 mL Probe in einem Röhrchen behandelt werden. Das Röhrchen wird 5 Minuten lang kräftig geschüttelt und dann durch Filterpapier filtriert.
- Proben mit dem Megazyme Carrez Clarification Kit (K-CARREZ) entproteinisieren.
- Fett mit dem Megazyme Carrez Clarification Kit (K-CARREZ) entfernen.

3. <u>Beispiele für die Probenvorbereitung</u>

(a) Bestimmung von L-Apfelsäure in Wein. Zur Klärung durch ein 0,2-Mikron-Spritzenfilter laufen lassen. Alternativ dazu kann ein aliquoter Teil des Weins 5 Minuten lang bei 15.000 g zentrifugiert werden. *In der Regel ist eine 3-fache Verdünnung mit destilliertem Wasser erforderlich.*

(b) Bestimmung von L-Apfelsäure in Fruchtsaft (z. B. Apfelsaft). Zur Klärung durch ein 0,2-Mikron-Spritzenfilter laufen lassen. Alternativ kann ein aliquoter Teil des Saftes 5 Minuten lang bei 15.000 g zentrifugiert werden. *In der Regel ist eine 50-fache Verdünnung mit destilliertem Wasser erforderlich.*

(c) Bestimmung von L-Apfelsäure in Bier (z. B. Lager). Karbonisierung durch etwa 60 Sekunden langes

Umrühren der Probe mit einem Glasstab entfernen. Durch ein 0,2-Mikron-Spritzenfilter laufen lassen und das klare Filtrat für den Test verwenden. *In der Regel ist keine Verdünnung erforderlich.*

(d) Bestimmung von L-Apfelsäure in Süßwaren (z. B. Haribo Tangfastics). 4 g der Süßwaren genau in einen 100-mL-Messzylinder einwiegen und mit destilliertem Wasser auf 100 mL auffüllen. Den Inhalt des Zylinders in einen Mixer geben und 30 Sekunden lang mischen oder so lange, bis er homogen ist. Den entstandenen Schaum absetzen lassen. Die Flüssigkeit kann dann ohne weitere Behandlung für das Testprotokoll verwendet werden. *In der Regel ist keine Verdünnung erforderlich.*

(e) Bestimmung von L-Apfelsäure in Obst und Gemüse (z. B. Brokkoli). Feste Proben in einem Mixer homogenisieren. 5 g Brokkoli in ein Becherglas einwiegen und mit 70 mL destilliertem, auf 60 °C erhitztem Wasser extrahieren. Quantitativ in einen 100- mL-Messkolben überführen. Bis zur Marke mit destilliertem Wasser auffüllen, mischen, mit einem Papierfilter filtrieren und das klare Filtrat für den Test verwenden. *In der Regel ist keine Verdünnung erforderlich.*

WICHTIGER HINWEIS: Die Anwender sollten vor der routinemäßigen Verwendung eine interne Matrixvalidierung durchführen. Dieser Prozess wird alle problematischen auftretenden Matrices aufzeigen. Die oben genannten Beispiele sind lediglich Vorschläge für die Probenvorbereitung. Wenden Sie sich mit evtl. Fragen zu diesen oder anderen Matrices bitte an Ihren örtlichen Vertriebsmitarbeiter.

SERVICES UND TECHNISCHE UNTERSTÜTZUNG

Bitte wenden Sie sich an Ihren örtlichen Vertriebsmitarbeiter, wenn Sie Unterstützung benötigen, insbesondere im Zusammenhang mit:

- Fehlerbehebung
- Datenanalyse
- Zusätzliche Matrixtests
- Anwendungsunterstützung bezüglich automatisierter Analysegeräte

Unterstützende Dokumente sind auf der Produktseite zu finden:

- Kurzreferenz-Leitfaden
- MegaCalc™
- Sicherheitsdatenblätter (SDS)
- Analysezertifikate (COA)
- Validierungsbericht

Kontaktieren Sie uns für weitere Informationen: neogen.com/contact

Ohne Gewähr

Die in diesem Assay-Protokoll enthaltenen Informationen sind nach unserem besten Wissen und Gewissen wahrheitsgetreu und genau. Da sich die Anwendungsbedingungen jedoch unserer Kontrolle entziehen, wird keine Garantie für etwaige Empfehlungen oder Vorschläge oder dafür, dass die Verwendung keinen Patenten schadet, gegeben oder impliziert. Es liegt in der Verantwortung des Benutzers, vor der routinemäßigen Verwendung eine interne Matrixvalidierung durchzuführen.

© 2024, Neogen Corporation. Alle Rechte vorbehalten.

Neogen, Megazyme, Liquid Ready und MegaCalc sind Handelsmarken der Neogen Corporation. Alle anderen Marken sind Eigentum ihrer jeweiligen Inhaber.